



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ
EXTENSIÓN EN EL CARMEN
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Creada Ley No 10 – Registro Oficial 313 de Noviembre 13 de 1985



PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROPECUARIO**

**Incorporación de implementos para la reproducción de microorganismos
eficientes autóctonos, de forma líquida**

AUTOR: Adrian Andrés Zambrano Zambrano

TUTOR: Ing. Nexar Vismar Cobeña Loor, Mg.

El Carmen, Agosto del 2026

	NOMBRE DEL DOCUMENTO: CERTIFICADO DE TUTOR(A)	CÓDIGO: PAT-04-F-004
	PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	REVISIÓN: 1 Página 1 de 55

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor de la Extensión El Carmen de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular bajo la autoría del estudiante **Adrian Andrés Zambrano Zambrano**, legalmente matriculado en la carrera de Ingeniería Agropecuaria, período académico 2025 (2), cumpliendo el total de 384 horas, cuyo tema del proyecto es **“Incorporación de implementos para la reproducción de microorganismos eficientes autóctonos, de forma líquida”**

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad del mismo, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

El Carmen, 6 agosto del 2026.



Ing. Nexar Vismar Cobeña Loor, Mg.

Docente Tutor

Área: Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria

**UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABÍ
EXTENSIÓN EN EL CARMEN**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

TÍTULO:

**“Incorporación de implementos para la reproducción de microorganismos
eficientes autóctonos, de forma líquida”**

AUTOR: Adrian Andrés Zambrano Zambrano

TUTOR: Ing. Nexar Vismar Cobaña Loor, Mg.

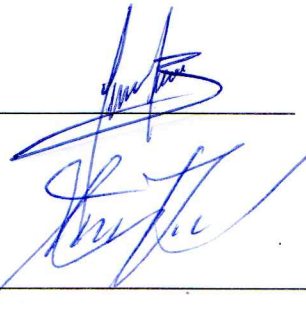
**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROPECUARIO**

TRIBUNAL DE TITULACIÓN

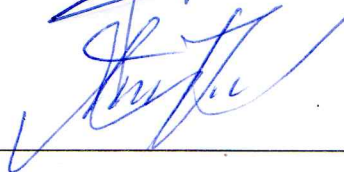
MIEMBRO 1 Mg, kleber Fernando Mejia Chanaluisa _____



MIEMBRO 2 Mg. De La Cruz Chicaiza Marco Vinicio _____



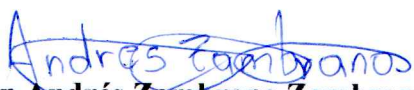
MIEMBRO 3 PhD. Lopez Mejia Francel Xavier _____



DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Adrian Andrés Zambrano Zambrano**, con cédula de ciudadanía **1313704361** estudiante de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, Extensión El Carmen, de la Carrera Ingeniería Agropecuaria, declaro que las opiniones, criterios y resultados encontrados en las aplicaciones de los diferentes instrumentos de investigación que están resumidos en las recomendaciones con el tema **“Incorporación de implementos para la reproducción de microorganismos eficientes autóctonos, de forma líquida”**, son información exclusiva de su autora, apoyados por el criterio de profesionales de diferentes indoles, presentados en la bibliografía que fundamenta este trabajo; al mismo tiempo declaro que el patrimonio intelectual del trabajo investigativo pertenece a la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, Extensión El Carmen.

Atentamente,


Adrian Andrés Zambrano Zambrano

El Carmen, 06 de agosto del 2026

DEDICATORIA

“El desarrollo agroecológico no se impone desde afuera; nace desde las raíces culturales de los pueblos que trabajan y protegen la tierra” - Manuel Suquilanda

A Dios, fuente inagotable de sabiduría y fortaleza, por concederme el privilegio de tener a los padres que tengo, quienes me han guiado con amor, ejemplo y principios firmes. Gracias por permitirme ver realizado el sueño de convertirme en ingeniero agropecuario.

A mi familia, por su cariño incondicional y por caminar a mi lado en cada etapa de esta travesía académica. Su apoyo constante, sus palabras de aliento en los momentos más difíciles, su respaldo emocional y su esfuerzo económico han sido fundamentales para alcanzar esta meta.

Cada sacrificio, cada gesto de confianza y cada muestra de amor han sido el impulso que me motivó a seguir adelante. Este logro no es solo mío: lleva en cada página la huella de su entrega, y por ello, les pertenece con igual mérito y gratitud.

Adrián Andrés Zambrano Zambrano

AGRADECIMIENTO

“El conocimiento ancestral del campesino es ciencia viva; ignorarlo es renunciar a la posibilidad de una agricultura verdaderamente resiliente.”— Manuel Suquilanda

Agradezco a Dios por haberme concedido la sabiduría, la perseverancia y la fortaleza necesarias para transitar este camino académico y alcanzar la meta de convertirme en Ingeniero Agropecuario. Su guía espiritual fue mi mayor sostén en los momentos de incertidumbre y esfuerzo.

Mi profundo y sincero agradecimiento a mi padre y mi madre, por su amor, apoyo incondicional, sacrificio y confianza constante, los cuales fueron fundamentales para no rendirme y seguir adelante en todo momento.

De igual manera, agradezco a mis amigos de la universidad, quienes con su apoyo, consejos y compañerismo hicieron más llevadero este camino y contribuyeron de manera significativa a la culminación de este trabajo.

Agradezco sinceramente a cada uno de los docentes que formaron parte de mi formación profesional en mi alma mater, la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, extensión El Carmen. Sus enseñanzas, su entrega y su ejemplo dejaron una huella indeleble en mi vida y en mi vocación.

Finalmente, destaco con gratitud el apoyo moral, afectivo y económico de mi familia, cuyo respaldo incondicional hizo posible que este sueño se convirtiera en una realidad. A ustedes les pertenece también este logro.

Adrián Andrés Zambrano Zambrano

ÍNDICE

CERTIFICACIÓN	II
TRIBUNAL DE TITULACIÓN	III
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	IV
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTO	VI
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE ANEXOS	XII
RESUMEN	XIII
ABSTRACT	XIV
CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
JUSTIFICACIÓN	3
OBJETIVOS	4
HIPÓTESIS	4
METODOLOGÍA	4
1.1. Localización de la unidad experimental	5
1.2. Caracterización climática de la zona	5
1.3. Materiales	6
1.4. Métodos	7
1.4.1. Tipo de investigación	7
1.4.2. Método inductivo deductivo	7
1.4.3. Método Empírico	7
1.4.4. Método experimental	8
1.4.5. Fuentes de recolección de información	8
1.5. Variables del estudio	8
1.5.1. Variable independiente	8
1.5.2. Variable dependiente	9
1.6. Tratamientos	9
1.7. Análisis estadístico	9
1.8. Manejo del experimento	9
1.8.1. Preparación del medio líquido	9

1.8.2.	Incorporación en contenedores y condiciones de fermentación	9
1.8.3.	Monitoreo del proceso.....	10
1.8.4.	Seguimiento del proceso.....	10
1.8.5.	Evaluación microbiológica final.....	10
CAPÍTULO II.....		11
MARCO TEÓRICO.....		11
2.1.	Microorganismos de montaña.....	11
2.2.	Taxonomía de los microorganismos.....	12
2.3.	Microorganismos eficientes autóctonos (EMA)	12
2.4.	Principales microorganismos que se encuentran en los microorganismos eficientes autóctonos	13
2.4.1.	Las bacterias ácido lácticas (BAL).....	13
2.4.2.	Las bacterias fotosintéticas.....	14
2.4.3.	Las levaduras	15
2.4.4.	Los actinomicetos.....	15
2.4.5.	Los hongos filamentosos fermentadores.....	16
2.5.	Uso de microorganismos eficientes autóctonos (EMA).....	16
2.6.	Duración y conservación de microorganismos eficientes autóctonos	18
2.7.	Funciones de los microorganismos eficientes autóctonos	18
TRABAJOS REALIZADOS.....		20
CAPITULO III.....		22
3.	DESARROLLO DE LA PROPUESTA	22
3.1.	Descripción del sistema o proceso	22
3.1.1.	Antecedentes.....	22
3.2.	Diseño y selección de tecnologías, herramientas o equipos a implementar	22
3.2.1.	Ubicación de la propuesta.....	22
3.2.2.	Metodología de la propuesta	22
3.2.3.	Descripción funcional de los componentes	23
3.2.4.	Desglose de gastos.....	24
3.3.	Plan de implementación.....	25
3.4.	Resultados y Discusión	26
CAPÍTULO IV		28
CONCLUSIONES.....		28
RECOMENDACIONES		29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		XXX
ANEXOS.....		XXXV

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características climatológicas de la localidad.....	5
Tabla 2. <i>Materiales, equipos y reactivos utilizados en la captura solidad e identificación de las cepas de los microorganismos eficientes autóctonos</i>	6
Tabla 3. Materiales y Equipo para la producción de la solución madre.....	6
Tabla 4. Descripción de variables independiente	8
Tabla 5. Descripción de variables dependientes.....	9
Tabla 6. Tratamientos del estudio	9
Tabla 7. Comparación de grupos microbianos de los microgramos eficientes autóctonos.....	16
Tabla 8. Desglose de gastos para la implementación del sistema de reproducción de microorganismos eficientes autóctonos.....	24
Tabla 9. Plan de implementación del sistema de reproducción de microorganismos eficientes autóctonos.....	25
Tabla 10. Composición de los tratamientos y concentración de bacterias ácido-lácticas (UFC·mL ⁻¹).....	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización geográfica del área de estudio	5
Figura 2. Forma de los principales géneros de bacterias ácido-lácticas	14
Figura 3. Forma del <i>Rhodopseudomonas palustris</i>	14
Figura 4. Forma de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
Figura 5. Forma de <i>Streptomyces albus</i>	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Tarrinas utilizadas para la captura de microorganismos eficientes autóctonos, preparadas con arroz cocinado, melaza y fuente proteica, dispuestas en diferentes puntos del área de estudio para favorecer la colonización microbiana	XXXV
Anexo 2. Proceso de hidratación y maceración del material fermentado capturado, realizado mediante la adición de agua no clorada y agitación manual para la obtención de la solución madre	XXXV
Anexo 3. Adición de solución madre al tanque de fermentación	XXXVI
Anexo 4. Incorporación de yogurt natural al medio líquido	XXXVI
Anexo 5. Melaza utilizada como fuente de carbono	XXXVI
Anexo 6. Recuento microbiológico de bacterias ácido-lácticas mediante el método de siembra en placa por vertido (pour plate).....	XXXVII
Anexo 7. Resultado de análisis de población micológicas	XXXVIII
Anexo 8. Resultado de análisis de población micológica	XXXIX
Anexo 9. Informe de resultados de laboratorio T1 de recuento de bacterias acido-lácticas.....	XL
Anexo 10. Informe de resultados de laboratorio T2 de recuento de bacterias acido-lácticas.....	XL

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo reproducir microorganismos eficientes autóctonos (EMA) en forma líquida y evaluar su viabilidad microbiológica mediante técnicas básicas de laboratorio. El estudio se desarrolló en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Extensión El Carmen, utilizando un sistema de fermentación en tanques de 180 L. La captura de los microorganismos se realizó mediante trampas elaboradas con arroz cocinado, melaza y proteína animal, colocadas en diferentes zonas montañosas con cobertura vegetal. El material fermentado obtenido se utilizó para la elaboración de una solución madre. A partir de esta solución se establecieron dos tratamientos. El Tratamiento 1 estuvo conformado por solución madre (15 L), yogurt natural (3 L), suero de leche (4 L), soya (3 lb) y melaza (2,5 L). El Tratamiento 2 incluyó solución madre (15 L), yogurt natural (3 L), leche entera (3 L), soya (3 lb) y mucílago de cacao (2,5 L). Ambos tratamientos se sometieron a fermentación líquida durante 30 días bajo condiciones controladas, sin agitación mecánica. La metodología microbiológica consistió en la evaluación del recuento de bacterias ácido-lácticas mediante el método de siembra en placa por vertido (pour plate) utilizando agar MRS, expresando los resultados en unidades formadoras de colonia por mililitro ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$). Los resultados evidenciaron la presencia de bacterias ácido-lácticas en ambos tratamientos, registrándose una mayor concentración en el Tratamiento 1 ($1,6 \times 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) en comparación con el Tratamiento 2 ($1,8 \times 10^7 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$). Se concluyó que la composición del medio fermentativo influyó en la densidad microbiana alcanzada.

Palabras clave: microorganismos eficientes, fermentación líquida, solución madre, biotecnología agrícola.

ABSTRACT

The aim of this study was to reproduce autochthonous efficient microorganisms (AEM) in liquid form and to evaluate their microbiological viability using basic laboratory techniques. The research was carried out at the Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), El Carmen campus, using a fermentation system based on 150 L tanks. Microorganisms were initially captured using traps prepared with cooked rice, molasses, and animal protein, which were placed in different mountainous areas with natural vegetation cover. The fermented solid material obtained was subsequently used to prepare a mother solution. Two liquid treatments were formulated from this mother solution. Treatment 1 (T1) consisted of 15 L of mother solution, 3 L of natural yogurt, 4 L of whey, 3 lb of soybean, and 2.5 L of molasses. Treatment 2 (T2) included 15 L of mother solution, 3 L of natural yogurt, 3 L of whole milk, 3 lb of soybean, and 2.5 L of cocoa mucilage. Both treatments were subjected to liquid fermentation for 30 days under controlled conditions, without mechanical agitation. The microbiological methodology focused exclusively on the enumeration of lactic acid bacteria, determined by the pour plate method using MRS agar. Results were expressed as colony-forming units per milliliter (CFU·mL⁻¹). Lactic acid bacteria were detected in both treatments, with a higher concentration observed in T1 (1.6×10^8 CFU·mL⁻¹) compared to T2 (1.8×10^7 CFU·mL⁻¹). These findings indicated that the composition of the fermentation medium influenced the final microbial density achieved.

Keywords: efficient microorganisms, liquid fermentation, mother solution, agricultural biotechnology.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Los llamados microorganismos eficientes (EM) se dieron a conocer como consorcios líquidos de bacterias ácido-lácticas, levaduras, bacterias fotosintéticas, actinobacterias y hongos fermentadores capaces de coexistir en cultivo y aplicarse como bioinsumos agrícolas y ambientales (Toalombo, 2012). Esa idea ganó forma en los trabajos pioneros de Teruo Higa en Japón a partir de los años 1980, y fue difundida con el concepto de “agricultura de naturaleza” y de mezclas microbianas funcionales, no de cepas únicas (Toalombo, 2012).

Actualmente se distingue el uso de microorganismos autóctonos (IMO/EMA), capturados y multiplicados desde matrices locales (hojarasca, suelos boscosos), por su mejor adaptación edafoclimática (Suquilanda, 2003). O’Callaghan et al. (2022), establecen que, en la última década, son múltiples los estudios que permitieron evaluar el uso de EM/IMO como bioestimulantes y biofertilizantes, reportando mejoras en rendimiento y calidad en hortalizas, lo que permitió reducir el uso de fertilización química. Así mismo, se describió recuperación de pastizales degradados y mejoras fisicoquímicas y biológicas de sustratos bajo manejo con consorcios (Borowiak et al., 2021).

En ambientes pecuarios, combinaciones de *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Saccharomyces* mejoraron características del compost y el entorno de establos cama-caliente, ilustrando la versatilidad de los microorganismos eficientes autóctonos (Liu et al., 2009). Estos efectos se atribuyen a la mineralización acelerada, producción de metabolitos (ácidos orgánicos, vitaminas), competencia microbiana e inducción de defensas vegetales (Higuera et al., 2018).

Más allá del suelo, la literatura reportó aplicaciones ambientales: control de eutrofización en embalses mediante EM líquidos y “bokashi balls”, y mejoras en parámetros microbiológicos y fisicoquímicos del agua; revisiones recientes sistematizaron su uso en tratamiento de aguas residuales, lodos y compostaje, resaltando potenciales mejoras en la calidad del compostaje, lodo y desde luego mejorando la calidad del agua residual (Chang et al., 2007).

Estas experiencias sustentan que los consorcios microbianos, bien formulados, pueden integrarse como soluciones basadas en la naturaleza para saneamiento y gestión de residuos orgánicos como lo menciona Suquilanda (2003). Sin embargo, la evidencia es heterogénea: ensayos de largo plazo en clima templado no hallaron mejoras consistentes de EM sobre

rendimiento o calidad del suelo; y las revisiones sobre inoculantes subrayan que la eficacia depende de calidad de formulación, compatibilidad con el agroecosistema, densidad viable, manejo y tiempos de aplicación (Demir et al., 2024).

En consecuencia, la línea de trabajo “Incorporación de implementos para la reproducción de microorganismos eficientes autóctonos, de forma líquida” se orientó a diseñar y validar un kit mínimo y un protocolo estandarizado de captura activación multiplicación control de calidad; su implementación en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Extensión El Carmen, servirá como plataforma docente y de investigación aplicada, con unidades demostrativas y soporte de extensión para productores del cantón.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el cantón El Carmen, la producción agrícola mostró limitaciones para reproducir en forma líquido microorganismos eficientes autóctonos (EMA) con calidad constante. La ausencia de un kit de implementos estandarizado y de un protocolo claro para activación, multiplicación y control de calidad constituyó la causa principal que provocó inóculos con baja viabilidad, lotes inestables y resultados agronómicos poco previsibles (Gámez-Zamora, 2016).

La carencia de recipientes grado alimentario con sello hidráulico, filtros adecuados, fuentes de carbono definidas y equipos básicos de control (pH-metro, termómetro, medidor de °Brix) derivó en contaminación recurrente, tiempos de producción elevados y dificultades para conservar la estabilidad microbiana en el medio líquido (Higuera et al., 2018). Esta situación impidió establecer curvas de madurez confiables y comprometió la dosificación precisa en cultivos en campo.

Además, la falta de indicadores operativos validados (pH objetivo, °Brix de referencia y concentración viable en $\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) puede limitar la capacidad de seguimiento y reducir la comparabilidad entre lotes y entre fincas. Como efecto, los productores del cantón mantuvieron dependencia de insumos sintéticos de respuesta rápida y postergaron estrategias de producción más limpia, pese a la disponibilidad de fuentes microbianas locales.

PREGUNTA DE LA INVESTIGACIÓN

¿La incorporación de un kit de implementos estandarizado y un protocolo con control de calidad para la reproducción líquida de EMA incrementó la concentración y estabilidad del inóculo y, a la vez, redujo la contaminación y el tiempo de producción?

JUSTIFICACIÓN

La agricultura orgánica representa una vía concreta para mejorar rentabilidad y sostenibilidad, al priorizar alimentos con menor carga de residuos y al disminuir la dependencia de insumos sintéticos (Higuera et al., 2018). Sin embargo, mantener productividad y calidad exigió recuperar la fertilidad biológica del suelo y estabilizar procesos de ciclado de nutrientes (Toalombo, 2012).

En ese contexto, Mera (2022), menciona que los microorganismos eficientes autóctonos (EMA) en formulación líquida se justificaron como una alternativa técnica y económicamente viable. Al aplicar los microorganismos eficientes en dosificación precisa en integración con fertirriego o aspersión y verificación rutinaria de calidad (pH, °Brix, viabilidad), se le proporciona al cultivo las condiciones necesarias para escalar una producción más limpia sin comprometer el rendimiento (Suquilanda, 1996).

En cultivos perennes como *Musa AAB* y cacao, y en pasturas clave como pasto saboya (*Megathyrus maximus*) y braquiarias (*Urochloa* spp.), los consorcios microbianos bien formulados favorecieron la disponibilidad de nutrientes, la colonización benéfica de rizosfera y filosfera y la modulación de defensas, con efectos positivos sobre crecimiento, eficiencia de uso de nutrientes y estabilidad productiva; estos beneficios dependieron de alta viabilidad y compatibilidad del inoculante con el agroecosistema (Da Silva-Ferreira & Maia-Barbosa, 2013; Mera, 2022).

La forma líquida, permite posibilitar ajustes de concentración y tiempos de madurez, ya que al aplicar puede resultar más adecuada para ventanas críticas de manejo en diversos cultivos como banano, plátano, cacao y sistemas forrajeros (Reinaldo, 2020). Para garantizar esta consistencia, se requirió estandarizar un kit mínimo de implementos y un protocolo operativo: recipientes grado alimentario con sello hidráulico, filtración, fuentes de carbono definidas y medición básica de pH y °Brix, junto con un módulo de caracterización sencilla de cepas dominantes (morfología de colonias, tinción de Gram, recuentos selectivos) (Liu et al., 2009).

Esta estandarización puede reducir contaminación, además de acortar tiempos de propagación, mejorar la trazabilidad de los microorganismos eficientes autóctonos y permitir comparar lotes entre fincas, condiciones imprescindibles para decisiones técnicas y económicas en el cantón. Con ello, se creó una base operativa para elevar productividad en los rubros más representativos de El Carmen y avanzar hacia metas locales de producción más limpia.

OBJETIVOS

Objetivo general

Establecer los implementos para la reproducción de microorganismos eficientes autóctonos, de forma líquida.

Objetivos específicos

Especificar y poner en uso los implementos, materiales y criterios de bioseguridad requeridos para la reproducción líquida de EMA.

Identificar y caracterizar las cepas presentes en los EMA obtenidos mediante técnicas de microbiología básica y registrar su viabilidad y predominancia para relacionarlas con el desempeño del proceso.

HIPÓTESIS

- **Hipótesis nula (H_0)**

La estandarización de los implementos y del protocolo operativo para la reproducción líquida de EMA mejora significativamente la calidad microbiológica y la consistencia del proceso, evidenciada menor tasa de contaminación con un perfil de cepas estable y predominante entre lotes.

- **Hipótesis alternativa (H_1)**

La estandarización de los implementos y del protocolo operativo para la reproducción líquida de EMA no mejora la calidad microbiológica ni la consistencia del proceso evidenciando una mayor tasa de contaminación.

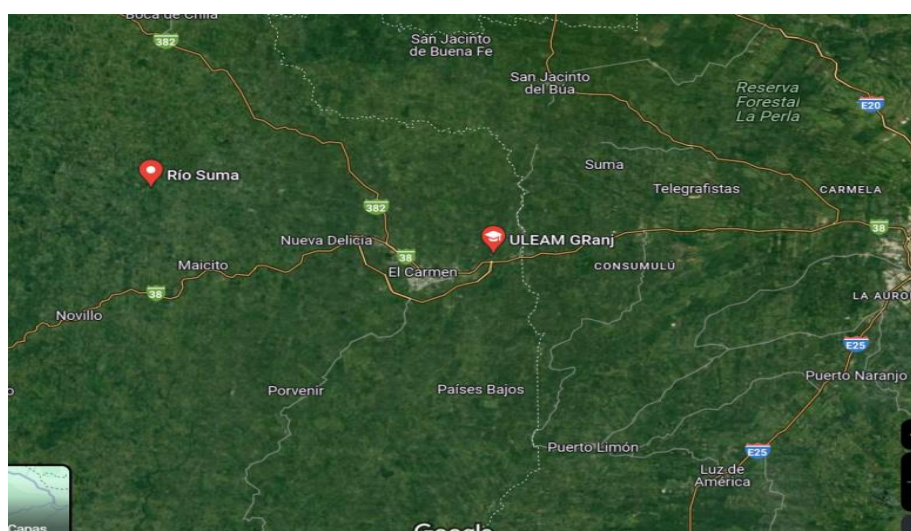
METODOLOGÍA

1.1. Localización de la unidad experimental

La investigación se ejecutó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), Extensión El Carmen. El inóculo autóctono se obtuvo de un bosque no intervenido de cuatro ha perteneciente a la Universidad, seleccionado por su mínima perturbación y alta diversidad microbiana.

Se establecieron puntos de muestreo sistemáticos y se recolectaron sustratos representativos (hojarasca, suelo 0–10 cm, rizósfera y materia orgánica en descomposición) con material estéril y trazabilidad mediante fichas de campo.

Figura 1. Localización geográfica del área de estudio



Nota. Tomado de Google Maps, (2025).

1.2. Caracterización climática de la zona

A continuación, algunas características climáticas del cantón:

Tabla 1. Características climatológicas de la localidad

Características	El Carmen
Clima	Trópico Húmedo
Temperatura (°C)	24
Humedad Relativa (%)	86
Heliofanía (Horas luz año ⁻¹)	1026,2
Precipitación media anual (mm)	2659
Altitud (msnm)	249

Fuente: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI, 2022)

1.3. Materiales

Tabla 2. *Materiales, equipos y reactivos utilizados en la captura solididad e identificación de las cepas de los microorganismos eficientes autóctonos*

Materiales para los sustratos	Equipos	Reactivos	Identificación de cepas
Tarrinas	Tubos de ensayo	Agua destilada	Solución salina estéril NaCl 0,85%
Medias de nylon	Cajas Petri	Agar nutritivo	Placas Petri estériles
Machete	Jeringa	Cristal violeta (colorante principal)	Agar Nutritivo (NA)
Ligas	Mechero	Lugol (mordiente)	Agar MRS
Arroz	Gradilla de plástico	Alcohol-cetona (decolorante)	PDA
Melaza	Pipetas de 1 mL	Safranina (colorante de contraste)	Asas de siembra
Cebada	Pipetas de 10 mL	Aceite de inmersión	Mechero Bunsen o incinerador
Trigo	Pera de goma		Tubos Falcon + gradillas
	Frascos de esterilización		Micropipetas + puntas estériles
	Espátula		Incubadora
	Balanza analítica		Microscopio óptico
	Agitador vórtex		Kit de tinción de Gram
	Cabina de flujo laminar		Aceite de inmersión
	Microscopio		Peróxido de hidrógeno 3%
	Asa de glaski		Reactivo de oxidasa (Kovács)
	Portaobjetos		Alcohol 70% y desinfectantes

Tabla 3. *Materiales y Equipo para la producción de la solución madre*

Materiales y equipos	Especificación	Observaciones
Recipientes plásticos con tapa	Grado alimentario, capacidad $\geq 180L$	Preparación y fermentación del medio líquido
Solución madre de microorganismos eficientes	Líquida	Inóculo microbiológico
Yogurt natural	Sin azúcar ni conservantes	Fuente de bacterias ácido-lácticas

Materiales y equipos	Especificación	Observaciones
Suero de leche	Fresco, sin aditivos	Fuente microbiana y nitrogenada (T1)
Leche entera	Sin aditivos	Fuente microbiana (T2)
Soya	En grano o triturada	Fuente de nitrógeno orgánico
Melaza	Grado alimentario	Fuente de carbono fermentable (T1)
Mucílago de cacao	Fresco	Fuente de carbono y compuestos bioactivos (T2)
Agua	No clorada	Medio de dilución
Varilla plástica o espátula	Limpia y desinfectada	Homogeneización del medio
Frascos ámbar con tapa	500–1000 mL	Almacenamiento del producto final
Alcohol al 70 % y toallas	—	Higiene durante el proceso

1.4. Métodos

1.4.1. Tipo de investigación

La investigación se desarrolló en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), Extensión El Carmen, y correspondió a un estudio experimental de alcance descriptivo–comparativo, orientado a la evaluación microbiológica de formulaciones líquidas para la reproducción de microorganismos eficientes autóctonos. El estudio se centró en la caracterización del comportamiento microbiológico de dos tratamientos líquidos elaborados bajo condiciones controladas de fermentación (Guadalupe & Concepción, 2020).

1.4.2. Método inductivo deductivo

El método inductivo permitió interpretar los resultados microbiológicos obtenidos a partir de la observación directa de los recuentos bacterianos en cada tratamiento. El método deductivo facilitó la contrastación de estos resultados con los objetivos del estudio, permitiendo establecer comparaciones técnicas entre las formulaciones evaluadas dentro de un marco analítico definido (Álvarez & Sierra, 1995).

1.4.3. Método Empírico

El estudio se sustentó en la medición directa en laboratorio, mediante el análisis microbiológico de las muestras líquidas obtenidas de cada tratamiento. La variable evaluada

fue el recuento de bacterias ácido-lácticas, expresado como unidades formadoras de colonia por mililitro ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$), determinado mediante el método de siembra en placa (pour plate), utilizando agar MRS como medio de cultivo de referencia. Los análisis se realizaron en un laboratorio acreditado, conforme a su método interno establecido (Guadalupe & Concepción, 2020).

1.4.4. Método experimental

El estudio se clasificó como experimental debido a la intervención deliberada en la formulación del medio líquido, mediante la incorporación de diferentes fuentes orgánicas en cada tratamiento. Se establecieron dos tratamientos diferenciados por su composición, manteniéndose constantes las condiciones generales de fermentación. La comparación entre tratamientos se realizó exclusivamente en función del recuento final de bacterias ácido-lácticas, sin aplicación de pruebas de inferencia estadística, debido a la existencia de una única determinación analítica por tratamiento.

1.4.5. Fuentes de recolección de información

Se utilizaron fuentes primarias y secundarias. Las primarias correspondieron a la observación directa y a los registros experimentales (capturas en campo, mediciones de pH, °Brix y recuentos microbiológicos). Las secundarias correspondieron a libros, artículos científicos y otras publicaciones especializadas empleadas para contextualizar y discutir los hallazgos (Arias, 2012).

1.5. Variables del estudio

1.5.1. Variable independiente

Tabla 4. Descripción de variables independiente

Variable	Categorías / niveles
Composición del medio líquido de reproducción de microorganismos eficientes autóctonos	T1: solución madre + yogurt natural + suero de leche + soya + melaza
	T2: solución madre + yogurt natural + leche entera + soya + mucílago de cacao

1.5.2. Variable dependiente

Tabla 5. Descripción de variables dependientes

Variable	Definición operacional	Unidad de medida	Método
Concentración de bacterias ácido-lácticas	Recuento microbiológico de bacterias ácido-lácticas presentes en el medio líquido al final del proceso de fermentación	UFC·mL ⁻¹	Siembra en placa (pour plate) en agar MRS

1.6. Tratamientos

Tabla 6. Tratamientos del estudio

Tratamiento	Descripción operacional
T1	Solución madre + yogurt natural + suero de leche + soya + melaza
T2	Solución madre + yogurt natural + leche entera + soya + mucílago de cacao

1.7. Análisis estadístico

El análisis de los resultados se realizó mediante estadística descriptiva y comparación directa de los valores microbiológicos obtenidos para cada tratamiento. Dado que se contó con una sola determinación analítica por tratamiento, no se aplicaron pruebas de inferencia estadística. La interpretación se basó en la comparación de los recuentos de bacterias ácido-lácticas (UFC·mL⁻¹) y en criterios técnicos reportados para microorganismos eficientes líquidos, permitiendo evaluar el comportamiento microbiológico de las formulaciones estudiadas tras 30 días de fermentación.

1.8. Manejo del experimento

1.8.1. Preparación del medio líquido

1.8.2. Incorporación en contenedores y condiciones de fermentación

La preparación del medio líquido se realizó directamente en tanques plásticos de 180 L de capacidad, empleando una solución madre líquida de microorganismos eficientes autóctonos como inóculo inicial.

Para el Tratamiento 1 (T1) se incorporaron 15 L de solución madre, 3 L de yogurt natural, 4 L de suero de leche, 3 lb de soya y 2,5 L de melaza. Para el Tratamiento 2 (T2) se incorporaron 15 l de solución madre, 3 l de yogurt natural, 3 L de leche entera, 3 lb de soya y 2,5 L de mucílago de cacao. Posteriormente, se adicionó agua no clorada hasta completar el volumen de trabajo del tanque y la mezcla se homogenizó manualmente.

1.8.3. Monitoreo del proceso

Los tanques se mantuvieron cerrados, protegidos de la radiación solar directa y ubicados en un ambiente ventilado. El proceso de fermentación líquida se desarrolló durante 30 días, sin agitación mecánica, permitiendo el desarrollo natural de la actividad microbiana bajo condiciones controladas.

1.8.4. Seguimiento del proceso

Durante el periodo de fermentación se realizaron observaciones periódicas de carácter visual y organoléptico, verificando cambios en color, olor y formación de gases, como indicadores del desarrollo del proceso fermentativo. No se realizaron mediciones fisicoquímicas intermedias, dado que estas no formaron parte de las variables evaluadas en el estudio.

1.8.5. Evaluación microbiológica final

Al finalizar los 30 días de fermentación, se tomaron muestras representativas de cada tratamiento y se enviaron a un laboratorio acreditado para la determinación del recuento de bacterias ácido-lácticas, expresado como unidades formadoras de colonia por mililitro ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$), mediante el método de siembra en placa (**pour plate**) utilizando agar MRS. La evaluación de los resultados se realizó mediante análisis descriptivo y comparación directa de valores, sin aplicación de pruebas de inferencia estadística, debido a la existencia de una sola determinación analítica por tratamiento.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Microorganismos de montaña

Los microorganismos de montaña (MM) constituyen consorcios microbianos complejos que pueden agrupar alrededor de 80 especies pertenecientes a una decena de géneros, integrando principalmente bacterias fotosintéticas, actinomicetos, bacterias productoras de ácido láctico y levaduras (Orbe, 2017). Franco (2021) menciona que, estos grupos microbianos se desarrollan en diversos ecosistemas naturales, donde participan en procesos de descomposición de la materia orgánica, liberando compuestos que se transforman en nutrientes esenciales para la vegetación circundante.

Tales ecosistemas incluyen bosques mixtos, formaciones de latifoliadas, zonas montañosas, plantaciones de café y áreas de bambú, entre otros ambientes de alta diversidad biológica (León, 2020). Para Gámez-Zamora (2016), los microorganismos de montaña (MM), también son conocidos como microorganismos de bosque además constituyen comunidades microbianas complejas integradas por colonias de hongos filamentosos, bacterias y levaduras presentes de manera natural en diversos ecosistemas.

Estos organismos cumplen funciones esenciales en los ciclos biogeoquímicos al intervenir en la descomposición de materia orgánica y la liberación de nutrientes (Toalombo, 2012). Su obtención mediante métodos artesanales representa una alternativa de bajo costo, dado que no requiere medios de cultivo sofisticados y permite aprovechar la diversidad microbiana nativa de zonas boscosas para su posterior aplicación en unidades de producción agrícola (Franco, 2021).

Las principales fuentes de inóculo suelen encontrarse en el mantillo forestal de bosques próximos a las fincas, el cual alberga microorganismos adaptados a las condiciones climáticas y edáficas de la región (Torres-Pérez et al., 2022). Estos MM, una vez incorporados en los sistemas agrícolas, pueden actuar como bioinoculantes, favoreciendo la fermentación de abonos, la elaboración de biopreparados y extractos naturales, y contribuyendo a la recuperación del microbiota y la fertilidad del suelo (J. Escobar, 2007).

Torres-Pérez et al. (2022) mencionan que los microorganismos de montaña facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas, inhiben el desarrollo de patógenos y apoyan el

control biológico de plagas, lo que los convierte en una herramienta estratégica dentro de la agricultura sostenible. Otros usos de los MM incluyen el tratamiento de aguas residuales, la reducción de olores en sistemas pecuarios, la gestión de desechos ganaderos y el tratamiento de enfermedades digestivas en animales, lo que evidencia su versatilidad y relevancia en la bioseguridad agropecuaria (Campo et al., 2014).

La eficiencia de estos consorcios microbianos ha sido ampliamente documentada en manuales técnicos, guías de campo y estudios científicos, resaltando su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones de manejo y su potencial para integrarse en estrategias agroecológicas de bajo impacto ambiental (Chang et al., 2007).

2.2. Taxonomía de los microorganismos

Al igual que el resto de los seres vivos, los microorganismos se agrupan dentro de un sistema de clasificación taxonómica que facilita su identificación y estudio (Reitz & Shackley, 2012). Este sistema se basa en la nomenclatura binomial, la cual asigna al organismo un nombre compuesto por dos términos en latín: el primero corresponde al género y el segundo a la especie. Por ejemplo, *Bacillus thuringiensis* se clasifica como *Bacillus* (género) y *thuringiensis* (especie) (Singh, 2023).

No obstante, la taxonomía abarca una organización jerárquica más amplia que permite establecer comparaciones biológicas entre diferentes organismos, distribuyéndolos en categorías como: reino, subreino, filo o *phylum*, subtipo, clase, subclase, orden, suborden, grupo, familia, subfamilia, género y especie. Generalmente, los taxónomos ubican a las especies dentro de estas categorías utilizando características fenotípicas compartidas (Toalombo, 2012).

En el caso de los microorganismos, este procedimiento ha sido aplicado principalmente a hongos y algas, debido a su mayor complejidad estructural, mientras que las bacterias constituyen una excepción, ya que todas son unicelulares y presentan estructuras simples (O'Callaghan et al., 2022).

2.3. Microorganismos eficientes autóctonos (EMA)

Los microorganismos eficientes autóctonos (EMA) corresponden a consorcios microbianos con aplicaciones en agricultura, ganadería, agroindustria y procesos ambientales. Están compuestos por cepas seleccionadas de levaduras, bacterias ácido-lácticas, bacterias fotosintéticas en menor proporción, actinomicetos y hongos, que coexisten de forma compatible

en un cultivo líquido (Camacho et al., 2019).

Según Córdova-Vinueza (2015), en el ámbito agrícola, los EMA han demostrado su eficacia para incrementar la productividad de sistemas orgánicos o naturales, al participar en la elaboración de bioinsumos como compost, bioles y Bokashi, disminuyendo el tiempo requerido para su obtención y optimizando el proceso.

Gámez-Zamora, (2016) enfatiza que el uso de dichos microorganismo como base de bioinsumos constituye una alternativa viable para reducir la dependencia de agroquímicos y fomentar sistemas de producción orgánica sostenible, dado que contribuyen a restablecer el equilibrio microbiológico del suelo, mejoran sus propiedades físicas y químicas, favorecen la fisiología de los cultivos y los protegen frente a enfermedades, al mismo tiempo que preservan los recursos naturales tal como lo corrobora Toalombo (2012).

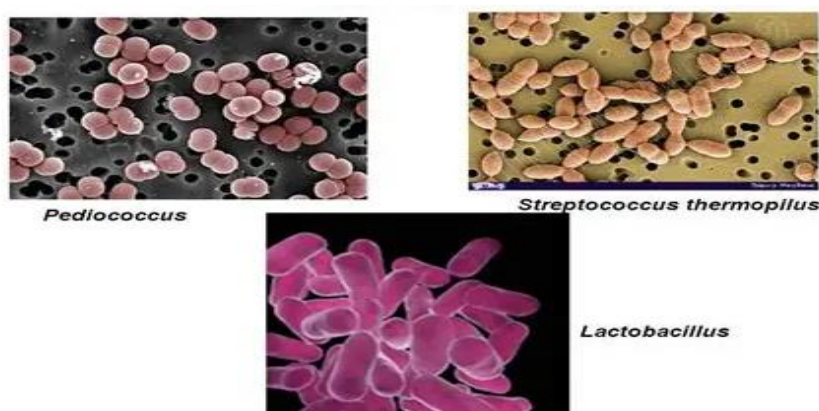
2.4. Principales microorganismos que se encuentran en los microorganismos eficientes autóctonos

Los microorganismos eficientes (ME) están conformados por cinco grupos microbianos principales: bacterias ácido lácticas, bacterias fotosintéticas, levaduras, actinomicetes y hongos filamentosos con capacidad fermentativa (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019). Cada uno de estos grupos cumple funciones específicas en los procesos de fermentación y en la mejora de la salud del suelo y los cultivos (Ceiro-Catasú et al., 2023).

2.4.1. Las bacterias ácido lácticas (BAL)

Se caracterizan por su aplicación en la fermentación de alimentos como productos lácteos, cárnicos, vegetales, ensilados y bebidas fermentadas (Ceiro-Catasú et al., 2023). Son cocos o bacilos Gram positivos, no esporulados, inmóviles, anaerobios facultativos o microaerófilos, y producen ácido láctico como principal metabolito en la fermentación de carbohidratos (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019).

Figura 2. principales géneros de bacterias ácido-lácticas



Fuente: tomado de Ceiro-Catasú et al. (2023).

Su tolerancia a un rango amplio de pH les permite sobrevivir en medios hostiles para otras bacterias. Dentro de este grupo se incluyen géneros como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Pediococcus*, con actividad antimicrobiana principalmente por la producción de bacteriocinas como la nisina (Souza et al., 2015).

2.4.2. Las bacterias fotosintéticas

Representadas por especies como *Rhodopseudomonas palustris* y *Rhodobacter sphaeroides*, son microorganismos autótrofos facultativos capaces de utilizar exudados radiculares como fuente de carbono y la luz solar como fuente de energía (Hsu et al., 2021). Estas especies sintetizan aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas y azúcares que benefician a otros microorganismos (Li et al., 2022).

Su versatilidad metabólica les permite realizar respiración aeróbica y anaeróbica, fijación de nitrógeno y síntesis de compuestos esenciales como clorofilas y vitamina B12 (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019).

Figura 3. Forma del *Rhodopseudomonas palustris*

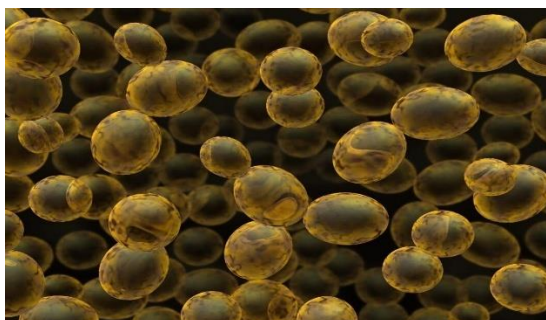


Fuente: tomado de Hsu et al. (2021).

2.4.3. Las levaduras

Principalmente *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis*, metabolizan diversas fuentes de carbono y energía, produciendo etanol, enzimas y hormonas que pueden ser aprovechadas por otros grupos microbianos (Parapouli et al., 2020). Requieren nitrógeno en forma de amoníaco, urea o sales de amonio, y nutrientes como fósforo, magnesio y vitaminas del complejo B. Además, secretan sustancias con actividad antimicrobiana y pueden participar en procesos de fermentación alcohólica (Lin et al., 2012).

Figura 4. Forma de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*



Fuente: tomado de Parapouli et al. (2020).

2.4.4. Los actinomicetos

Como *Streptomyces albus* y *S. griseus*, son bacterias filamentosas similares a hongos que cumplen un papel crucial en la descomposición de compuestos vegetales y en el compostaje (Espinoza et al., 2022). Son reconocidos por su capacidad de producir compuestos antifúngicos y enzimas hidrolíticas como quitinasas y β -1,3-glucanasas, que actúan contra patógenos como *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia minor* y *Sclerotium rolfsii* (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019).

Figura 5. Forma de *Streptomyces albus*



Fuente: tomado de Espinoza et al. (2022).

2.4.5. Los hongos filamentosos fermentadores

Como *Aspergillus oryzae*, *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. y *Mucor hiemalis*, participan en la mineralización de materia orgánica y en el control biológico de patógenos (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019). *A. oryzae* se emplea tradicionalmente en la fermentación de granos y soja, mientras que especies de *Penicillium* degradan lignina y celulosa. *Trichoderma* spp. destaca por su amplia distribución geográfica, alta capacidad enzimática y mecanismos de biocontrol como micoparasitismo, antibiosis e inducción de resistencia en plantas (Hernández-Teyssier et al., 2023).

Tabla 7. Comparación de grupos microbianos de los microgramos eficientes autóctonos

Grupo microbiano	Ejemplos de especies	Funciones principales	Productos/metabolitos destacados
Bacterias ácido lácticas (BAL)	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>S. lactis</i>	Fermentación de alimentos, control de patógenos, acidificación del medio	Ácido láctico, bacteriocinas (nisina)
Bacterias fotosintéticas	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> , <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	Producción de metabolitos para otros microorganismos, fijación de N, respiración anaerobia	Aminoácidos, vitaminas, clorofilas
Levaduras	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida utilis</i>	Producción de etanol, enzimas y hormonas, fermentación alcohólica	Etanol, enzimas hidrolíticas
Actinomicetes	<i>Streptomyces albus</i> , <i>S. griseus</i>	Control biológico, descomposición de materia orgánica	Antibióticos, quitinasas, β -1,3-glucanasas
Hongos filamentosos fermentadores	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.	Mineralización, biocontrol, fermentación tradicional	Enzimas extracelulares, metabolitos antifúngicos

Fuente: adaptado de Espinoza et al., (2022); Li et al., (2022); Parapouli et al., (2020); Ramírez-López & Vélez-Ruiz, (2016).

2.5. Uso de microorganismos eficientes autóctonos (EMA)

En la agricultura presenta variaciones en su efectividad dependiendo de factores como la ubicación geográfica, la calidad del suelo, el clima, las prácticas de cultivo y el manejo del riego (Toalombo, 2012). La aplicación de EMA favorece la retención de humedad en el suelo, lo que incrementa la resistencia de los cultivos frente a períodos de sequía o en suelos con

textura arenosa (Torres-Pérez et al., 2022).

Este beneficio se atribuye al aumento de materia orgánica, que reduce la porosidad excesiva del suelo, y al equilibrio iónico que estos microorganismos promueven, facilitando la interacción entre las cargas de las partículas del suelo y las del agua (Tanya-Morocho & Leiva-Mora, 2019). Según la misma fuente, la presencia de EMA contribuye al mantenimiento de la materia orgánica durante el crecimiento del cultivo, acelerando la descomposición de macromoléculas y liberando macro y micronutrientes en formas más fácilmente asimilables.

En cuanto a su uso en semilleros, Souza et al. (2015), reportan que los EMA aumentan la velocidad y el porcentaje de germinación gracias a su acción hormonal, similar a la del ácido giberélico, mejorando el vigor y el desarrollo de tallos y raíces desde la germinación hasta la emergencia.

Estos efectos incrementan la probabilidad de supervivencia de las plántulas y estimulan su crecimiento inicial mediante la acción de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. En el desarrollo de las plantas, Romano et al. (2008), explican que los EMA pueden inducir resistencia sistémica frente a plagas y enfermedades, limitar la propagación de patógenos al consumir exudados de raíces, hojas, flores y frutos, y mejorar la calidad y productividad de los cultivos. Asimismo, promueven procesos fisiológicos como la floración, fructificación y maduración debido a sus efectos hormonales en zonas meristemáticas, además de incrementar la capacidad fotosintética gracias a un mayor desarrollo foliar (Reitz & Shackley, 2012).

Respecto a los suelos, Reinaldo (2020), indica que los EMA mejoran sus propiedades físicas, químicas y biológicas. En el plano físico, actúan como acondicionadores al mejorar la estructura y agregación de partículas, reducir la compactación, aumentar la porosidad y optimizar la infiltración de agua, lo que disminuye la frecuencia de riego y mejora la capacidad de retención hídrica, contribuyendo a la reducción de la erosión (Ramírez-Marrache et al., 2019).

Desde el punto de vista químico, incrementan la disponibilidad de nutrientes mediante procesos de solubilización que liberan elementos esenciales en formas simples, facilitando su absorción radicular (Ramírez-López & Vélez-Ruiz, 2016). En el ámbito biológico, fomentan la biodiversidad microbiana y ejercen un control competitivo sobre los patógenos del suelo, generando condiciones favorables para el establecimiento y proliferación de microorganismos benéficos nativos (Quispe & Chávez, 2017).

2.6. Duración y conservación de microorganismos eficientes autóctonos

Según el Ministerio de Agricultura de Japón (MOA, 2003), los microorganismos eficientes autóctonos (EMA) presentan una vida útil aproximada de seis meses a partir de su envasado. Para preservar su viabilidad, se recomienda almacenarlos en un ambiente con temperatura estable, evitando cambios bruscos entre el día y la noche, y manteniéndolos en condiciones frescas, oscuras y con mínima exposición a la luz (O'Callaghan et al., 2022).

No se aconseja su conservación en invernaderos, ya que las variaciones térmicas diurnas pueden afectar negativamente su estabilidad (Mera, 2022). En caso de que el producto presente un olor desagradable, se debe descartar su uso. Asimismo, es posible que se observen variaciones en la tonalidad desde un color té más claro hasta uno más oscuro, atribuibles a las diferencias en la materia prima utilizada, sin que ello implique una disminución en la calidad del producto (Liu et al., 2009).

2.7. Funciones de los microorganismos eficientes autóctonos

De acuerdo con diversas investigaciones, los microorganismos eficientes autóctonos (MEA) desempeñan un papel clave en la sostenibilidad agrícola debido a la variedad de funciones que cumplen en los ecosistemas edáficos y productivos (Li et al., 2022). Entre sus principales aportes se encuentra la capacidad de descomponer la materia orgánica, lo que facilita la liberación y disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas (Kiran, 2019). Asimismo, presentan efectos antagonistas sobre microorganismos patógenos, contribuyendo a reducir su proliferación en el suelo (León, 2020).

En el ámbito fisiológico vegetal, los MEA ejercen efectos hormonales que estimulan el desarrollo del follaje, la floración y la fructificación, lo que se traduce en un incremento del rendimiento y la calidad de los cultivos (Li et al., 2022). Adicionalmente, tienen la capacidad de degradar compuestos tóxicos, incluyendo residuos de plaguicidas, favoreciendo así la mejora de la calidad física, química y biológica del suelo (Kumar et al., 2020).

Su uso no se limita a los sistemas agrícolas, ya que, cuando se incorporan al agua o al alimento de animales de granja, optimizan la digestión y el aprovechamiento de nutrientes, mejorando su estado sanitario y productivo (Keliikuli et al., 2019). En la fase inicial de los cultivos, los MEA aceleran la germinación de las semillas y favorecen un establecimiento más vigoroso de las plántulas (Kumar et al., 2020)..

En el ámbito pecuario y ambiental, estos microorganismos también actúan como controladores de malos olores y poblaciones de moscas, particularmente en explotaciones ganaderas y sistemas de tratamiento de aguas como las lagunas de oxidación, contribuyendo a un manejo más limpio y eficiente de los residuos orgánicos (Hsu et al., 2021; Triana, 2019).

TRABAJOS REALIZADOS

Tany-Morocho y Leiva-Mora (2019) indicaron que las producciones agrícolas limpias constituyen una prioridad en los programas de desarrollo de varios países, y que los microorganismos eficientes (ME) han emergido como una alternativa sostenible y eficaz desde la década de 1980, gracias a las investigaciones del profesor Teruo Higa en la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón. Estos consorcios microbianos incluyen bacterias ácido lácticas, bacterias fotosintéticas, levaduras, actinomicetes y hongos filamentosos con capacidad fermentativa. En el ámbito agrícola, los ME promueven la germinación de semillas, estimulan la floración, el crecimiento y el desarrollo de los frutos, además de mejorar la estructura física del suelo, incrementar su fertilidad química y suprimir patógenos que afectan a numerosos cultivos. A nivel fisiológico, aumentan la capacidad fotosintética y la eficiencia en la absorción de agua y nutrientes por parte de las plantas. Asimismo, reducen los tiempos de maduración de abonos orgánicos como el compost, mejorando su calidad. En conjunto, estas propiedades explican su capacidad para incrementar el rendimiento agrícola y su uso extendido, así como el de productos derivados como los bioles.

Toalombo (2012) desarrolló un estudio en la propiedad del Sr. Luis Antonio Toalombo Panimboza, ubicada en el caserío El Chilco La Esperanza, cantón Tisaleo, provincia de Tungurahua, a 3341 msnm y 2605 metros del centro urbano de Tisaleo, con una temperatura media anual de 14,12 °C. La investigación evaluó el efecto de diferentes dosis y frecuencias de aplicación de microorganismos eficientes autóctonos (EMA) en el rendimiento de cebolla blanca (*Allium fistulosum*), empleando las dosis D1 = 1 cc EMA + 1 cc melaza/1 L, D2 = 2 cc EMA + 2 cc melaza/2 L y D3 = 3 cc EMA + 3 cc melaza/3 L, combinadas con frecuencias de aplicación F1, F2 y F3 (cada 7, 14 y 21 días, respectivamente). El experimento se diseñó con 30 parcelas distribuidas en 9 tratamientos más un testigo, con 3 repeticiones, bajo un Diseño de Bloques Completamente al Azar. Los resultados mostraron que, aunque estadísticamente los tratamientos con EM y el testigo no presentaron diferencias significativas, matemáticamente el tratamiento D1F3 alcanzó la mayor altura de planta (34,44 cm a los 60 días), mientras que D2F3 presentó la mayor altura a los 90 días (40,54 cm) y a los 120 días (44,79 cm), así como el mayor diámetro de pseudotallo (2,19 cm) y volumen radicular (7,33 cm²), obteniendo el segundo mayor rendimiento (27 389,09 kg/ha). Por su parte, el tratamiento D3F2 presentó el mayor volumen radicular (7,33 cm²), la menor incidencia (2,77 %) y severidad (2,78 %) de pudrición del tallo, alcanzando el mayor rendimiento (29 120,00 kg/ha). El testigo obtuvo los valores más bajos en todas las variables, con un rendimiento de 17 227,64 kg/ha. En conclusión, el

tratamiento D3F2 fue identificado como la mejor alternativa para optimizar el rendimiento en el cultivo de cebolla blanca.

Triana (2019) realizó un estudio cuyo objetivo fue elaborar cuatro tipos de sustratos para la captura de microorganismos eficientes autóctonos (MEA) en una zona protegida de la parroquia Patricia Pilar, ubicada en el kilómetro E25 de la vía Buena Fe, Santo Domingo, Ruta Santa María del Toachi, provincia de Los Ríos. Se empleó un Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA) con cuatro tratamientos, cuatro repeticiones y cuatro unidades experimentales por repetición, utilizando un total de 64 trampas para la captura. Se evaluaron variables de caracterización morfológica en laboratorio, la concentración de los microorganismos con mayor presencia en los sustratos y se efectuó un análisis económico. Los resultados evidenciaron crecimiento poblacional de bacterias lácticas en los diferentes tratamientos, con variaciones de color blanco, amarillo, verdoso y blanco grisáceo. Se registraron elevadas poblaciones bacterianas por cada 100 g de sustrato, destacándose el T4 (cebada 50 g + melaza 50 g) con el mayor promedio y el T3 (trigo 50 g + melaza 50 g) con el más bajo. En el análisis económico, el T1 (arroz 50 g + carne 50 g) presentó el mayor costo y el ingreso más alto entre los tratamientos, aunque la relación beneficio/costo resultó igual en todos los sustratos elaborados.

Orbe, (2017) señaló que la agricultura convencional, aunque provee los insumos necesarios para la alimentación humana, ha generado impactos negativos en el equilibrio natural del ecosistema debido al uso de fertilizantes sintéticos y la expansión de la frontera agrícola. En este contexto, el estudio evaluó la eficiencia de cuatro dosificaciones de biofertilizante de Microorganismos de Montaña (MM) en el cultivo de rábano, empleando un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA) 4x4 y un análisis estadístico ANOVA de un factor. Los mejores resultados en crecimiento foliar, desarrollo radicular y peso de bulbo se obtuvieron con la dosis T1 (27,20 ml) de biofertilizante. Los datos, representativos para 1 m², permitieron estimar los costos de producción para 20 m², demostrando que dicha dosis resulta económicamente viable. En cuanto a las características químicas del suelo, se observaron cambios mínimos en pH y en el contenido de macro y micronutrientes. Se concluyó que las dosis de MM influyeron tanto en el crecimiento del cultivo como en la modificación de las propiedades del suelo, recomendándose su uso combinado con otros abonos orgánicos para optimizar rendimientos y realizar investigaciones adicionales en suelos de la región de Zamorano.

CAPITULO III

3. DESARROLLO DE LA PROPUESTA

3.1. Descripción del sistema o proceso

3.1.1. Antecedentes

Diversos estudios han demostrado que la reproducción líquida de microorganismos eficientes, particularmente de bacterias ácido-lácticas, constituye una estrategia viable para el desarrollo de bioinsumos agrícolas, debido a su capacidad para mejorar la actividad biológica del suelo y favorecer procesos de descomposición de materia orgánica. Higa & Parr, (1994), documentaron que los consorcios microbianos dominados por bacterias ácido-lácticas presentan alta estabilidad metabólica en medios líquidos fermentados, especialmente cuando se emplean fuentes orgánicas de carbono fácilmente fermentables, como la melaza, lo que respalda su uso en sistemas de agricultura sostenible (L. F. Escobar et al., 2010).

Investigaciones posteriores evidenciaron que el uso de subproductos agroindustriales como sustratos fermentativos permite optimizar la multiplicación microbiana y reducir costos de producción. En este contexto, Ramírez Martínez (2025), reportaron que el suero de leche y la leche entera constituyen medios adecuados para la proliferación de bacterias ácido-lácticas, debido a su contenido de lactosa, proteínas y minerales, los cuales favorecieron recuentos microbianos elevados en procesos de fermentación líquida controlada, similares a los utilizados en la elaboración de biofertilizantes microbianos.

3.2. Diseño y selección de tecnologías, herramientas o equipos a implementar

3.2.1. Ubicación de la propuesta

Latitud: 0°15' S y Longitud: 79°26' O

3.2.2. Metodología de la propuesta

La metodología de la propuesta se estructuró con base en un enfoque experimental descriptivo, orientado a la reproducción y evaluación microbiológica de microorganismos eficientes autóctonos en forma líquida. El proceso inició con la formulación de dos tratamientos diferenciados por la composición del medio fermentativo, utilizando como inóculo una solución madre líquida y como sustratos orgánicos yogurt natural, suero de leche o leche entera, soya y

melaza o mucílago de cacao, según el tratamiento establecido. La fermentación se llevó a cabo en tanques de 150 L durante un periodo de 30 días bajo condiciones controladas, sin agitación mecánica.

Una vez finalizado el proceso fermentativo, se procedió a la evaluación microbiológica del producto, enfocada exclusivamente en la determinación del recuento de bacterias ácido-lácticas, consideradas microorganismos clave dentro de los consorcios de microorganismos eficientes. Para ello, se tomaron muestras representativas de cada tratamiento y se enviaron a un laboratorio acreditado, donde se aplicó el método de siembra en placa (pour plate) utilizando agar MRS, medio selectivo para bacterias ácido-lácticas. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por mililitro ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Adicionalmente, la identificación del grupo bacteriano se realizó con base en el tipo de medio de cultivo utilizado y en los criterios microbiológicos del laboratorio, los cuales permiten confirmar la presencia de bacterias ácido-lácticas sin realizar caracterización molecular. La interpretación de los resultados se efectuó mediante análisis descriptivo y comparación directa de valores, debido a la existencia de una única determinación analítica por tratamiento, lo que resultó metodológicamente adecuado para una propuesta de carácter exploratorio.

3.2.3. Descripción funcional de los componentes

placa por vertido (pour plate), técnica ampliamente utilizada para la cuantificación de poblaciones microbianas viables en muestras líquidas. Este método permitió estimar la concentración de bacterias ácido-lácticas presentes en los productos fermentados, expresando los resultados como unidades formadoras de colonia por mililitro ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$).

El procedimiento se fundamentó en la capacidad de los microorganismos viables para desarrollarse y formar colonias visibles cuando son incorporados en un medio de cultivo sólido adecuado. En este estudio se utilizó agar MRS, medio selectivo que favorece el crecimiento de bacterias ácido-lácticas e inhibe el desarrollo de otros grupos microbianos, permitiendo una evaluación específica del grupo de interés.

Desde el punto de vista funcional, el método pour plate permitió una distribución homogénea de la muestra dentro del medio de cultivo, asegurando el contacto directo de las células microbianas con los nutrientes del agar y facilitando un recuento representativo. La cuantificación obtenida reflejó la viabilidad microbiana del producto final y constituyó el

principal criterio técnico para evaluar el desempeño del sistema de reproducción líquida de microorganismos eficientes autóctonos propuesto.

3.2.4. Desglose de gastos

La inversión principal correspondió a la adquisición de dos tanques plásticos de 180 L, indispensables para el proceso fermentativo, con un costo total de USD 60,00. Asimismo, se incluyeron los costos asociados a la solución madre de microorganismos eficientes, yogurt natural, suero de leche, leche entera, soya, melaza y mucílago de cacao, utilizados como fuentes microbianas, energéticas y nitrogenadas, cuyo valor conjunto ascendió a USD 85,05.

Adicionalmente, se consideraron gastos operativos relacionados con el uso de agua no clorada, frascos plásticos para muestreo y materiales de higiene necesarios para garantizar condiciones adecuadas durante el proceso, con un costo total de USD 18,00. El componente de mayor incidencia económica correspondió a la realización de cuatro análisis microbiológicos para el recuento de bacterias ácido-lácticas, efectuados en un laboratorio acreditado, con un costo de USD 140,00, lo cual fortaleció la confiabilidad de la caracterización microbiológica del sistema.

El subtotal de los gastos ascendió a USD 334,05, al cual se añadió el Impuesto al Valor Agregado (IVA) del 12 %, equivalente a USD 40,09, obteniéndose un costo total estimado de USD 374,14 para la ejecución completa de la propuesta.

Tabla 8. *Desglose de gastos para la implementación del sistema de reproducción de microorganismos eficientes autóctonos*

Descripción	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Tanque plástico grado alimentario (150 L)	2	45,00	90,00
Solución madre de microorganismos eficientes	30	2,00	60,00
Yogurt natural sin azúcar	6	1,50	9,00
Suero de leche	4	0,80	3,20
Leche entera	3	1,00	3,00
Soya	6	0,60	3,60
Melaza	2,5	1,20	3,00
Mucílago de cacao	2,5	0,50	1,25

Descripción	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Agua no clorada	300	0,01	3,00
Frascos plásticos ámbar para muestreo	6	1,50	9,00
Insumos de higiene (alcohol, guantes, toallas)	1	6,00	6,00
Análisis microbiológico (bacterias ácido-lácticas)	4	35,00	140,00
Subtotal (USD)			334,05
IVA 12 % (USD)			40,09
TOTAL (USD)			374,14

3.3. Plan de implementación

Tabla 9. *Plan de implementación del sistema de reproducción de microorganismos eficientes autóctonos*

Descripción de la actividad	Acción ejecutada
Preparación de trampas para captura microbiana	Se prepararon tarrinas plásticas incorporando arroz cocinado como sustrato base, melaza como fuente de carbono y pequeños trozos de carne de pollo crudo como fuente proteica, con el fin de atraer y favorecer el desarrollo de microorganismos autóctonos.
Ubicación de las trampas en campo	Las tarrinas fueron colocadas en diferentes puntos de una zona montañosa, seleccionando áreas con cobertura vegetal y mínima intervención antrópica, con el objetivo de capturar una mayor diversidad microbiana.
Protección y fermentación sólida	Las trampas se cubrieron parcialmente con hojarasca y piedras medianas, permitiendo la protección del material y el desarrollo de la fase sólida de fermentación bajo condiciones naturales.
Recuperación del material fermentado	Tras el periodo de fermentación, el material sólido capturado fue recolectado y trasladado al área de trabajo para la elaboración de la solución madre.
Elaboración de la solución madre	En un tacho plástico de 20 L se colocaron los microorganismos capturados, los cuales fueron mezclados con melaza y agua no clorada, permitiendo la obtención de una solución madre líquida.
Preparación de los tratamientos líquidos	A partir de la solución madre, se prepararon los tratamientos correspondientes, incorporando yogurt natural, suero de leche o leche entera, soya y melaza o mucílago de cacao, según la formulación establecida para cada tratamiento.

Reproducción líquida en tanques	Las mezclas se colocaron en tanques plásticos de 150 L, se completó el volumen con agua no clorada y se homogenizó manualmente para iniciar el proceso de fermentación líquida.
Fermentación controlada	Los tanques se mantuvieron cerrados, en un ambiente ventilado y protegidos de la radiación solar directa, durante un periodo de 30 días, sin agitación mecánica.
Muestreo del producto final	Finalizado el proceso fermentativo, se tomaron muestras representativas de cada tratamiento para su evaluación microbiológica.
Análisis microbiológico	Las muestras fueron enviadas a un laboratorio acreditado para la determinación del recuento de bacterias ácido-lácticas mediante el método de siembra en placa por vertido (pour plate).

3.4. Resultados y Discusión

El análisis microbiológico del producto fermentado evidenció la presencia de bacterias ácido-lácticas en ambos tratamientos, confirmando la viabilidad del proceso de reproducción líquida de microorganismos eficientes autóctonos. El Tratamiento 2 (T2), correspondiente a la formulación que incorporó solución madre, yogurt natural, leche entera, soya y mucílago de cacao, registró un recuento de $1,8 \times 10^7$ UFC·mL⁻¹, determinado mediante el método de siembra en placa por vertido (pour plate) en agar MRS.

Por su parte, el Tratamiento 1 (T1), conformado por solución madre, yogurt natural, suero de leche, soya y melaza, presentó un recuento superior de $1,6 \times 10^8$ UFC·mL⁻¹, lo que indicó una mayor proliferación de bacterias ácido-lácticas en esta formulación. Estos resultados mostraron que la composición del medio fermentativo influyó en la densidad microbiana alcanzada al final del proceso, destacándose el tratamiento que incluyó melaza y suero de leche como el de mayor concentración bacteriana.

Tabla 10. *Composición de los tratamientos y concentración de bacterias ácido-lácticas (UFC·mL⁻¹)*

Tratamiento	Composición del tratamiento	Bacterias ácido-lácticas (UFC·mL ⁻¹)
T1	Melaza (2,5 L)	$1,6 \times 10^8$
T2	Mucílago cacao (2,5 L)	$1,8 \times 10^7$

El mayor recuento de bacterias ácido-lácticas obtenido en el Tratamiento 1 coincidió con lo reportado por Rice et al. (2012), quienes señalaron que las fuentes ricas en azúcares

simples, como la melaza, favorecieron la rápida multiplicación de microorganismos benéficos durante procesos fermentativos anaerobios.

La menor concentración microbiana registrada en el Tratamiento 2 pudo estar asociada a la composición del mucílago de cacao, el cual contiene polifenoles y compuestos bioactivos que pueden modular la actividad microbiana, tal como fue descrito por Zambrano-Vélez, (2023), en fermentaciones de subproductos de cacao.

La presencia de bacterias ácido-lácticas en ambos tratamientos evidenció la eficacia de la solución madre como inóculo inicial, lo que concuerda con lo señalado por Consuelo-Corzo et al. (2025), quienes indicaron que los microorganismos autóctonos presentan alta capacidad de adaptación cuando son reproducidos a partir de su ambiente natural.

El uso de agar MRS y del método de siembra en placa por vertido permitió una cuantificación confiable de bacterias ácido-lácticas, en concordancia con los criterios microbiológicos establecidos por APHA (2015) para la evaluación de cultivos fermentativos líquidos.

Los resultados confirmaron que la composición del sustrato influyó directamente en la densidad poblacional microbiana, respaldando lo expuesto por Díaz-Quispe & Gonzales-Lobaton (2022), quienes destacaron que la selección adecuada de fuentes de carbono y nitrógeno resulta determinante para optimizar bioinsumos microbianos de uso agrícola.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

En relación con el primer objetivo, se especificaron y utilizaron adecuadamente los implementos, materiales y criterios de bioseguridad necesarios para la reproducción líquida de microorganismos eficientes autóctonos, lo que permitió ejecutar el proceso de fermentación bajo condiciones controladas, minimizando riesgos de contaminación y garantizando la estabilidad del sistema.

En relación con el segundo objetivo, se identificó y caracterizó la presencia predominante de bacterias ácido-lácticas en los microorganismos eficientes autóctonos obtenidos, mediante técnicas de microbiología básica, registrándose una concentración de $1,6 \times 10^8 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ en el Tratamiento 1 y de $1,8 \times 10^7 \text{ UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$ en el Tratamiento 2, lo que evidenció una mayor viabilidad y predominancia microbiana en la formulación que incorporó suero de leche y melaza, permitiendo relacionar la composición del medio fermentativo con el desempeño del proceso de reproducción líquida.

RECOMENDACIONES

Se recomendó replicar el proceso de reproducción líquida de microorganismos eficientes autóctonos incorporando mayor número de repeticiones analíticas y biológicas, con el fin de aplicar análisis estadísticos inferenciales que permitan fortalecer la comparación entre tratamientos y aumentar la robustez de los resultados obtenidos.

Se recomendó priorizar el uso de melaza y suero de leche como fuentes de carbono y nutrientes en la formulación de EMA líquidos, debido a que estas favorecieron una mayor concentración de bacterias ácido-lácticas, lo que podría mejorar la eficacia del producto final en aplicaciones agrícolas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, C., & Sierra, V. (1995). Metodología de la investigación científica. *Santiago de Cuba: Universidad de Oriente*.
- Arias, F. (2012). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica* (6ta ed.). Fidia G.
- Borowiak, K., Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A., Budka, A., Schroeter-Zakrzewska, A., & Stasik, R. (2021). The effects of various doses and types of effective microorganism applications on microbial and enzyme activity of medium and the photosynthetic activity of scarlet sage. *Agronomy*, 11(3), 603.
- Camacho, J. A., Pineda, D. C. R., Díaz, F. Y., LLacza, M. M., Yarasca, I. M., & Molina, M. A. B. (2019). *Elaboración de un biofertilizante a partir de microorganismos eficientes autóctonos en Perú*. 80(2), 515-522.
- Campo, A., Acosta, R., Morales, S., & Prado, F. A. (2014). Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán. *Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 12(1), 79-87.
- Ceiro-Catasú, W. G., Gaibor Fernández, R. R., Vargas Gálvez, C. A., Botello Guevara, H., Bonilla Landaverry, G., & Sosa Sánchez, O. (2023). Microorganismos autóctonos como alternativa para la biofertilización de *Glycine max* (L.) Merrill. *Agronomía Mesoamericana*, 34(2).
- Chang, E.-H., Chung, R.-S., & Tsai, Y.-H. (2007). Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. *Soil Science and Plant Nutrition*, 53(2), 132-140.
- Consuelo-Corzo, M., Rangel-Basto, Y. A., Clavijo-Herrera, G. E., Ureña-Pineda, S., & Pacheco-Serrano, K. J. (2025). Evaluación del efecto de la inoculación de microorganismos eficientes (M.E) en la producción de compost. *Respuestas*, 30(1), 83-94. <https://doi.org/10.22463/0122820X.4755>
- Córdova-Vinueza, L. S. (2015). *Evaluación del comportamiento de microorganismos eficientes autóctonos (EMA) y levaduras fermentadoras (Saccharomyces cerevisiae) en la fabricación del biofertilizante Bokashi* [Tesis de Grado, Universidad Técnica Ambato]. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/12942>
- Da Silva-Ferreira, M. T., & Maia-Barbosa, P. M. (2013). O fogo como facilitador da invasão biológica por *Megathyrus maximus* (Poaceae: Panicoideae) na Terra Indígena Maxakali (MG): Propostas para um manejo agroecológico integrado e adaptativo.

- Biodiversidade Brasileira*, 3(2), 159-174.
- Demir, H., Saka, A. K., Uçan, U., Akgün, İ. H., & Yalçı, H. K. (2024). Impact of effective micro-organisms (EM) on the yield, growth and bio-chemical properties of lettuce when applied to soil and leaves. *BMC Plant Biology*, 24(1), 1189.
- Díaz Quispe, J. A., & Gonzales Lobaton, D. C. (2022). *Obtención de biol a partir de los residuos sólidos orgánicos domiciliarios, utilizando microorganismos eficientes, en el distrito de Curimaná, Ucayali, Perú*. <https://hdl.handle.net/20.500.14621/6059>
- Escobar, J. (2007). *Caracterización y sistemas de producción de los cerdos criollos del cantón Chambo* [Ingeniero Zootecnista, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1752/1/17T0804.pdf>
- Escobar, L. F., Rojas, C. A., Giraldo, G. A., & Padilla-Sanabria, L. (2010). Evaluación del crecimiento de *Lactobacillus casei* y producción de ácido láctico usando como sustrato el suero de leche de vacuno. *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío*, 20(1), 42-49.
- Espinoza, C., Morales, P., Perez, B., Huaca, A., Céspedes, A., & Chanqueo, L. (2022). *Streptomyces griseus*. *Revista chilena de infectología*, 39(6), 751-752.
- Franco, D. (2021). *Caracterización y evaluación de probióticos de microorganismos de montaña reproducidos artesanalmente en Aguascalientes* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Aguascaliente]. <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/handle/11317/2140>
- Gámez-Zamora, L. A. (2016). *Efectos de los microorganismos eficientes autóctonos (MEA) EN LA producción de vermicompostaje* [Tesis de Grado, Universidad Tecnica Estatal de Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/cc9ed138-95eb-49da-b891-f1e34c48a8c5/content>
- Google Maps. (2025). 0°15'35.0"N 79°25'35.0"W. https://www.google.com.ec/maps/@-0.2621007,-79.443577,2416m/data=!3m1!1e3?entry=tту&g_ep=EgoyMDI1MDUyNi4wIKXMDSoASAFQAw%3D%3D
- Guadalupe, G. D., & Concepción, G. D. (2020). *Metodología de la investigación*. Grupo Editorial Patria.
- Hernández-Teyssier, E. L., Anducho-Reyes, M. Á., Díaz-Godínez, G., & Tellez-Jurado, A. (2023). Modelado del crecimiento durante la detoxificación de residuos de café por hongos filamentosos. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 10(SPE3).
- Higa, T., & Parr, J. F. (1994). *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable*

- agriculture and environment* (Vol. 1). International Nature Farming Research Center Atami, Japan.
- Higuera, C., Romero, R., López, R., & Breyda, G. (2018). Cultivo de Microorganismos Eficientes (EM) como alternativa agroecológica para los productores y huertos escolares del Municipio Rangel del Estado Mérida. *Fermentum*, 83, 715-725.
- Hsu, S.-H., Shen, M.-W., Chen, J.-C., Lur, H.-S., & Liu, C.-T. (2021). The photosynthetic bacterium *Rhodopseudomonas palustris* strain PS3 exerts plant growth-promoting effects by stimulating nitrogen uptake and elevating auxin levels in expanding leaves. *Frontiers in plant science*, 12, 573634.
- INAMHI. (2022, abril 16). *Anuario meteorológico*. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología.
http://www.serviciometeorologico.gob.ec/docum_institucion/anuarios/meteorologicos/Am_2013.pdf.
- Keliikuli, A., Smith, K., Li, Y., & Lee, C. (2019). Natural farming: The development of indigenous microorganisms using korean natural farming methods. *Sustainable Agriculture SA-19*, 1-19.
- Kiran, S. (2019). Effects of vermicompost on some morphological, physiological and biochemical parameters of lettuce (*Lactuca sativa* var. Crispa) under drought stress. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(2), 352-358.
- Kumar, J., Reddy, S., & Suguna, T. (2020). Role of Plankton in Aquaculture. *Revista International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(9), 2848-2851.
- León, D. J. (2020). *Análisis de la información científica de Microorganismos eficientes de montaña para potenciar la Diversidad Biológica de los Suelos Agrícolas*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica del Cotopaxi].
<https://repositorio.utc.edu.ec/items/eab2b195-897c-4ac9-8daf-a17fce9ad181>
- Li, M., Ning, P., Sun, Y., Luo, J., & Yang, J. (2022). Characteristics and application of *Rhodopseudomonas palustris* as a microbial cell factory. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 10, 897003.
- Lin, Y., Zhang, W., Li, C., Sakakibara, K., Tanaka, S., & Kong, H. (2012). Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and bioenergy*, 47, 395-401.
- Liu, F., Ying, G.-G., Tao, R., Zhao, J.-L., Yang, J.-F., & Zhao, L.-F. (2009). Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environmental pollution*, 157(5), 1636-1642.

- Mera, J. A. (2022). *Programa de fertilización de los pastos Saboya (Megathyrsus maximus), Brachiaria (Brachiaria brizantha) y Maralfalfa (Pennisetum sp)*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica De Cotopaxi]. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/8594>
- O'Callaghan, M., Ballard, R. A., & Wright, D. (2022). Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. *Soil Use and Management*, 38(3), 1340-1369.
- Orbe, J. A. (2017). *Evaluación de la eficiencia de Microorganismos de Montaña (MM) en la Finca Agroecológica Zamorano* [Tesis de Grado]. Escuela Agrícola panamericana «Zamorano».
- Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A.-S., & Hatziloukas, E. (2020). Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications. *AIMS microbiology*, 6(1), 1.
- Quispe, Y. C., & Chávez, C. M. F. (2017). Evaluación del efecto que tienen los microorganismos eficientes (EM), en el cultivo de pepinillo (Cucumis sativus L.), municipio de Achocalla: Yoselin Callisaya Quispe, Celia María Fernández Chávez. *Apthapi*, 3(3), 652-666. <https://doi.org/10.53287/cwpu3794jc40j>
- Ramírez Martínez, M. G. (2025). *Caracterización morfológica, bioquímica y molecular de cepas de bacterias ácido-lácticas del género Lactobacillus aisladas a partir de la fermentación del mucilago de cacao (Theobroma cacao L.) al norte del departamento del Huila* [Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/88655>
- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2016). Aislamiento, caracterización y selección de bacterias lácticas autóctonas de leche y queso fresco artesanal de cabra. *Información tecnológica*, 27(6), 115-128.
- Ramírez-Marrache, K., Florida Rofner, N., & Escobar Mamani, F. (2019). Indicadores químicos y microbiológicos del suelo bajo aplicación de microorganismos eficientes en plantación de cacao (Theobroma cacao L.). *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 6(2), 21-28.
- Reinaldo, J. R. M. (2020). Microorganismos eficientes y su empleo en la protección fitosanitaria de los cultivos. *Revista Científica Agroecosistemas*, 8(2), 102-109.
- Reitz, E. J., & Shackley, M. (2012). Viruses, bacteria, archaea, Protists, and fungi. En *Environmental Archaeology* (pp. 161-189). Springer.
- Rice, E. W., Baird, R. B., Eaton, A. D., & Clesceri, L. S. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater*.
- Romano, P., Capece, A., Serafino, V., Romaniello, R., & Poeta, C. (2008). Biodiversity of wild

- strains of *Saccharomyces cerevisiae* as tool to complement and optimize wine quality. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1797-1802.
- Singh, Y. (2023). *A Textbook of Fungi, Bacteria and Viruses*. Academic Guru Publishing House.
- Souza, R. de, Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genetics and molecular biology*, 38, 401-419.
- Suquilanda, M. (1996). *Agricultura orgánica, alternativa tecnológica del futuro*. (Edic. UPS,). Fundagro.
- Suquilanda, M. (2003). Abonos verdes: Alternativa ecológica. Cultivos Controlados. *Revista Agropecuaria Internacional.(Ecuador) Ed. Flor y Flor*, 137.
- Tanya-Morocho, M., & Leiva-Mora, M. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro agrícola*, 46(2), 93-103.
- Toalombo, R. M. (2012). *Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (allium fistulosum)* [Universdad Técnica Ambato]. <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/2217>
- Torres-Pérez, J. C., Aguilar Jiménez, C. E., Vázquez Solís, H., Solís López, M., Gómez Padilla, E., & Aguilar Jiménez, J. R. (2022). Evaluación del uso de microorganismos de montaña activados en el cultivo de rosas, Zinacantán, Chiapas, México. *Siembra*, 9(1).
- Triana, W. (2019). *Utilización de cuatro sustratos para la captura de microorganismos eficientes autóctonos de montaña en una zona protegida en la Parroquia Patricia Pilar año 2019* [Tesis de Grado, Universidad Técnica Estatal De Quevedo]. <file:///C:/Users/User/Desktop/T-UTEQ-0268.pdf>
- Zambrano Vélez, A. C. (2023). *Determinación de las características del abono bocashi mediante la aplicación de microorganismos autóctonos en el Cantón Chone*. [Tesis de grado, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí]. <https://repositorio.ulead.edu.ec/handle/123456789/4712>

ANEXOS

Anexo 1. *Tarrinas utilizadas para la captura de microorganismos eficientes autóctonos, preparadas con arroz cocinado, melaza y fuente proteica, dispuestas en diferentes puntos del área de estudio para favorecer la colonización microbiana*



Anexo 2. *Proceso de hidratación y maceración del material fermentado capturado, realizado mediante la adición de agua no clorada y agitación manual para la obtención de la solución madre*



Anexo 3. *Adición de solución madre al tanque de fermentación*



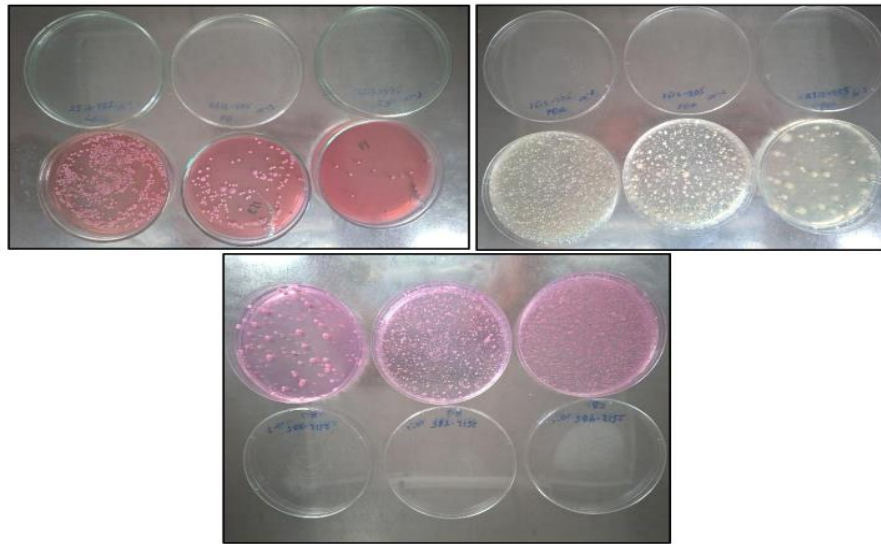
Anexo 4. *Incorporación de yogurt natural al medio líquido*



Anexo 5. *Melaza utilizada como fuente de carbono*



Anexo 6. *Recuento microbiológico de bacterias ácido-lácticas mediante el método de siembra en placa por vertido (pour plate)*



Anexo 7. Resultado de análisis de población micológicas



INFORME DE RESULTADOS

Código: DA-LAB10

Versión: 1

Página 1 de 2

Informe No. 2512-9841286

INFORMACIÓN SUMINISTRADA POR EL CLIENTE

Persona o empresa solicitante	Adrián Zambrano Zambrano
Persona de contacto	

Nombre comercial / identificación	T1	Fecha de caducidad	No se indica
Fecha de elaboración	No se indica	Número de lote	No se indica
Fecha de muestreo	No se indica	Condiciones de transporte de la muestra	Temperatura ambiente
Tipo de envase	Botella plástica	Lugar de origen	No se indica
Tipo de muestra	Biol		

INFORMACIÓN DEL LABORATORIO

Código de muestra	2512-984		
Fecha de ingreso	24/12/2025	Fecha inicio de análisis	31/12/2025
Fecha finalización de análisis	06/01/2026	Fecha emisión de informe	06/01/2025
Realización de ensayos	Laboratorio permanente –Av. Amazonas y Guayas, Ed. Torre Centre.		

RESULTADO DE ANÁLISIS

PARÁMETRO	MÉTODO	PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO DE ENSAYO	RESULTADO	UNIDAD
Poblaciones micológicas	Pour plate	LABPEE-15	Levaduras 1.1×10^3 Mohos <10	UFC/ml

Los resultados corresponden únicamente a la muestra analizada tal y como se recibió por parte del cliente.

Queda totalmente prohibida la reproducción parcial de este informe sin permiso por escrito del laboratorio.

Evidencia fotográfica



LABORATORIOS BIOTECNOLÓGICOS ASOCIADOS MICROBIOLAB S.A.S

Avenida Amazonas y Guayas, Edificio Torre Centre, Oficina 304 | microbiolabecuator@gmail.com | 0995612043

Anexo 8. Resultado de análisis de población micológica



INFORME DE RESULTADOS

Código: DA-LAB10

Versión: 1

Página 2 de 2



SIMBOLOGÍA

UFC	unidades formadoras de colonia	ml	mililitro
UFP	unidades formadoras de propágulos	g	gramo
NMP	número más probable	N/A	no aplica
RES	Recuento estimado estándar	%	porcentaje

MARIA ESTHER CORTEZ PAZMIÑO /

RESPONSABLE TÉCNICO

Microbióloga

Magister en Agroecología y Agricultura Sostenible



Firmado electrónicamente por:
**MARIA ESTHER CORTEZ
PAZMIÑO**
Validar electrónicamente con Firmat!

LABORATORIOS BIOTECNOLÓGICOS ASOCIADOS MICROBIOLAB S.A.S

Avenida Amazonas y Guayas, Edificio Torre Centre, Oficina 304 | microbiolabecuador@gmail.com | 0995612043

Anexo 9. Informe de resultados de laboratorio T1 de recuento de bacterias ácido-lácticas



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-MI.116409a

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	ZAMBRANO ZAMBRANO ADRIAN ANDRÉS
Dirección:	EL CARMEN
Teléfono:	0939877583

DATOS DE LA MUESTRA

Descripción:	Microorganismos Líquidos T1		
Lote:	--	Contenido declarado:	100 ml
Fecha de elaboración:	2025/11/17	Fecha de vencimiento:	--
Fecha de recepción:	2025/12/22	Hora de recepción:	10:10:36
Fecha de análisis:	2025/12/22	Fecha de emisión:	2025/12/29
Material de envase:	Plástico		
Toma de muestra realizada por:	EL CLIENTE		
Procedencia de los datos:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Color:	Característico	Olor:	Característico
Estado:	Líquido	Conservación:	Refrigeración
Temperatura de la muestra:	5.8 °C		

RESULTADO MICROBIOLOGÍA

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
Recuento de Bacterias ácido-lácticas	1,6 x 10 ⁸	UFC/mL	MMI-46	MRS AGAR / REP.

Nota 1: UFC/mL= unidades formadoras de colonia por mililitro.

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A. Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio para ensayos Físico-Químicos e Instrumentales partir de la fecha de ingreso será de 15 días calendario para muestras perecibles, 30 días calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para ensayos microbiológicos será de 5 días laborables para muestras perecibles, 10 días laborables para muestras medianamente perecibles y estables a partir de la fecha de análisis.

Multianalityca S.A. no asume responsabilidad por el uso posterior que el cliente o terceros den a los resultados emitidos. Se aceptarán reclamos únicamente dentro de los quince (15) días calendario posteriores a la emisión de los resultados; transcurrido dicho plazo, no se aceptarán reclamaciones de ningún tipo. La responsabilidad financiera del laboratorio se limita exclusivamente al valor pagado por el análisis correspondiente a la muestra entregada en ese momento, sin que en ningún caso exceda dicho importe. No se asumirán multas, sanciones ni daños indirectos, consecuentes o emergentes derivados del uso del informe.



Firmado electrónicamente por:
Quím. Nadia Torres

Quím. Nadia Torres
Jefe División Microbiología



JORGE ERAZO N50-109 Y CRISTOBAL SANDOVAL - EL PINAR - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR
(02) 330 0247, 330 0674, 095 885 0928, 099 428 8140 / informes@multianalityca.com

Desarrollado por MultySoft. Página 1/1

RMI-7.8-01 / Edición RG: 11

Anexo 10. Informe de resultados de laboratorio T2 de recuento de bacterias ácido-lácticas



INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-MI.116409b

DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	ZAMBRANO ZAMBRANO ADRIAN ANDRÉS
Dirección:	EL CARMEN
Teléfono:	0939877583

DATOS DE LA MUESTRA

Descripción:	Microorganismos Líquidos T2		
Lote:	--	Contenido declarado:	100 ml
Fecha de elaboración:	2025/11/17	Fecha de vencimiento:	--
Fecha de recepción:	2025/12/22	Hora de recepción:	10:10:36
Fecha de análisis:	2025/12/22	Fecha de emisión:	2025/12/29
Material de envase:	Plástico		
Toma de muestra realizada por:	EL CLIENTE		
Procedencia de los datos:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y a las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Color:	Característico	Olor:	Característico
Estado:	Líquido	Conservación:	Refrigeración
Temperatura de la muestra:	5.8 °C		

RESULTADO MICROBIOLOGÍA

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD	MÉTODO INTERNO	MÉTODO DE REFERENCIA
Recuento de Bacterias ácido-lácticas	1,8 x 10 ⁷	UFC/mL	MMI-46	MRS AGAR / REP.

Nota 1: UFC/mL= unidades formadoras de colonia por mililitro.

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca S.A. Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio para ensayos Físico-Químicos e Instrumentales partir de la fecha de ingreso será de 15 días calendario para muestras perecibles, 30 días calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para ensayos microbiológicos será de 5 días laborables para muestras perecibles, 10 días laborables para muestras medianamente perecibles y estables a partir de la fecha de análisis.

Multianalityca S.A. no asume responsabilidad por el uso posterior que el cliente o terceros den a los resultados emitidos. Se receptarán reclamos únicamente dentro de los quince (15) días calendario posteriores a la emisión de los resultados; transcurrido dicho plazo, no se aceptarán reclamaciones de ningún tipo. La responsabilidad financiera del laboratorio se limita exclusivamente al valor pagado por el análisis correspondiente a la muestra entregada en ese momento, sin que en ningún caso exceda dicho importe. No se asumirán multas, sanciones ni daños indirectos, consecuenciales o emergentes derivados del uso del informe.



Firmado electrónicamente por:
Quim. Nadia Torres

Quim. Nadia Torres
Jefe División Microbiología



JORGE ERAZO N50-109 Y CRISTOBAL SANDOVAL - EL PINAR - QUITO - PICHINCHA - ECUADOR
(02) 330 0247, 330 0674, 095 885 0928, 099 428 8140 / informes@multianalityca.com

Desarrollado por MultySoft. Página 1/1

RMI-7.8-01 / Edición RG: 11



TESIS Adrián Zambrano antiplagio

5%
Textos
sospechosos

- 5% Similitudes
 - < 1% similitudes entre comillas
 - 0% entre las fuentes mencionadas
- 0% Idiomas no reconocidos
- 22% Textos potencialmente generados por la IA (ignorado)

Nombre del documento: TESIS Adrián Zambrano antiplagio.docx
ID del documento: c574a5ee17a3c72545de831ffdb5fa5e1974e933
Tamaño del documento original: 2,88 MB

Depositante: Nexar Cobaña Llor
Fecha de depósito: 3/2/2026
Tipo de carga: interface
fecha de fin de análisis: 3/2/2026

Número de palabras: 7685
Número de caracteres: 54.398

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	TESIS Emely Ponce 2026 - antiplagio.docx TESIS Emely Ponce 2026 - an... #84f407 Viene de de mi biblioteca 4 fuentes similares	2%		Palabras idénticas: 2% (136 palabras)
2	repositorio.uteq.edu.ec https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5374/1/T-UTEQ-0268.pdf 4 fuentes similares	1%		Palabras idénticas: 1% (105 palabras)
3	Gordillo Rodríguez Michael Andrey-Plagio.docx Gordillo Rodríguez Mi... #1f9819 Viene de de mi grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (64 palabras)
4	scielo.sld.cu Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicacione... http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=50253-57852019000200093 2 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (50 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

Nº	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	Documento de otro usuario #76b7b2 Viene de de otro grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (16 palabras)
2	repositorio.unsch.edu.pe Evaluación del biol obtenido a partir de microorganis... https://repositorio.unsch.edu.pe/items/49a7dc9d-d0bb-4c7f-b1f5-b5833ad4d35d/full	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (15 palabras)
3	repositorio.uta.edu.ec Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos a... https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/bitstream/123456789/2217/1/Tesis-22agr.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (13 palabras)
4	bdigital.zamorano.edu Evaluación de la eficiencia de Microorganismos de Mon... https://bdigital.zamorano.edu/items/0cb50b1b-175d-4255-b2c8-ca9ff1f9c327	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (10 palabras)
5	poballe.com Melaza de Caña y Remolacha: Beneficios para Animales y Plantas - ... https://poballe.com/melaza-cana-remolacha-alimentacion-animal-fertilizante/	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (10 palabras)